

M. Guignard fait à la Société la communication suivante :

SUR QUELQUES PROPRIÉTÉS CHIMIQUES DE LA MYROSINE;
par **M. Léon GUIGNARD.**

En 1890 (1), j'ai montré que les principes spéciaux qui fournissent les essences des Crucifères, et qui sont représentés par la myrosine et par le myronate de potassium ou un glucoside analogue, peuvent être mis en évidence sous le microscope, dans les cellules mêmes qui les contiennent. Récemment (2), j'ai constaté que des principes semblables existent aussi chez les Capparidées, Limnanthées, Tropéolées, Résédacées et Papayacées, où leur localisation peut de même être reconnue par diverses réactions microchimiques. Il est assez curieux de rencontrer chez les Papayacées, qui ne présentent aucune affinité botanique avec les autres feuilles mentionnées, un ferment qui se comporte comme la myrosine et qui, par suite, est tout différent, par sa nature et sa localisation, de la papaine renfermée dans le latex de ces plantes.

L'existence de la myrosine est donc beaucoup plus répandue qu'on ne pouvait le supposer avant ces observations. Quant au glucoside, on savait qu'il varie, chez les Crucifères, suivant les espèces, quoiqu'on n'eût isolé que le myronate de potassium de la Moutarde noire et la sinalbine de la Moutarde blanche. A la diversité dans la composition chimique des essences doit, en effet, correspondre une différence dans les glucosides qui les fournissent par leur dédoublement sous l'influence de la myrosine. Il en est de même, à cet égard, pour les autres familles mentionnées, chez lesquelles les essences sont pour la plupart formées par le mélange d'un sulfocyanate et d'un nitrile variable, avec prédominance de l'un ou de l'autre de ces deux composés.

On ne connaît jusqu'ici qu'un seul caractère spécifique de la myrosine : c'est la propriété qu'elle possède, à l'exclusion des

(1) *Recherches sur la localisation des principes actifs des Crucifères* (*Journal de Pharmacie et de Chimie, Journal de Botanique*, 1890).

(2) *Recherches sur la localisation des principes actifs chez les Capparidées, Limnanthées, Tropéolées, Résédacées et Papayacées* (*Journal de Botanique*, nos 19, 20, 22, 23, 24, 1893 et nos 4 et 5, 1894).

autres diastases étudiées, de décomposer le myronate de potassium dans les conditions ordinaires où s'exerce l'action de ces substances. Aussi longtemps qu'il ne sera pas démontré que le myronate de potassium peut aussi être dédoublé par une autre diastase, on sera autorisé à croire que c'est bien la myrosine qui constitue le ferment trouvé dans les familles étudiées dans mes nouvelles observations, puisque les tissus intacts, qui ne renferment pas d'essence préformée, permettent d'extraire un ferment qui dédouble le myronate de potassium.

En recherchant la localisation de la myrosine dans les divers organes des Crucifères (racine, tige, feuille et graine), j'avais constaté qu'elle s'accumule parfois dans des tissus où l'on ne pouvait guère s'attendre au premier abord à la rencontrer. Tel est le cas de certaines graines, et en particulier de celle de la Lunaire, dont la grosseur et la structure spéciale permettent d'isoler facilement le tissu riche en myrosine. Ce tissu constitue la couche superficielle mince, qui recouvre la zone protectrice brune et sclérifiée du tégument séminal et forme l'aile circulaire de la graine. Une fraction de milligramme de cette aile suffit pour dédoubler très manifestement le myronate de potassium.

J'ai retrouvé la même localisation et la même abondance du ferment en question dans la graine des Papayers. Ici, la couche externe du tégument forme, sur la graine fraîche, une sorte de sac de consistance molle, d'une épaisseur variable suivant les espèces, souvent décrit à tort comme un arille. La couche interne, brune, est au contraire sclérifiée; elle porte des tubercules sur lesquels le sac se moule par la dessiccation en prenant l'aspect d'une mince pellicule transparente. En faisant macérer la graine dans l'eau pendant quelques heures, ce sac se gonfle, devient un peu mucilagineux et peut être enlevé facilement. Il est très riche en myrosine, tandis que le petit embryon de la graine en contient relativement fort peu; l'albumen n'en renferme pas du tout, mais il possède le glucoside susceptible de donner l'essence sulfurée, qu'on peut retirer par la distillation de la graine. Les propriétés du ferment se conservent pendant des années dans la graine sèche; elles ne paraissent pas avoir sensiblement diminué, même plusieurs années après la disparition de la faculté germinative.

Avec cette semence, on a donc une source abondante de myrosine. Il faut remarquer, de plus, que les cellules qui la renferment

appartiennent à un tissu mort, dont le contenu, à part la myrosine, se réduit presque à la substance qui se gonfle en mucilage au contact de l'eau et facilite ainsi la germination. La myrosine s'y trouve donc dans un plus grand état de pureté que dans les tissus de réserve, tels que la graine de la Moutarde blanche, d'où l'on ne peut l'extraire que mélangée avec une forte proportion des matières albuminoïdes. Sous ce rapport, l'aile de la graine de la Lunaire présente le même avantage.

Cette pureté relative du ferment dans la couche tégumentaire externe de ces deux graines appartenant à deux familles différentes permettait d'étudier, dans de bonnes conditions, les principales propriétés de la myrosine et de les comparer à celles du ferment qu'on peut extraire de la Moutarde blanche. Il suffisait, pour cela, d'isoler la couche en question, soit à l'état sec, avec la graine de Lunaire, soit après macération dans l'eau, avec la graine du Papayer. Comme celle-ci peut fournir beaucoup plus facilement que la première le poids de substance nécessaire pour des expériences répétées, c'est elle qui m'a servi le plus fréquemment.

Au lieu de précipiter le ferment de sa solution aqueuse à l'aide de l'alcool, ce qui l'altère partiellement, on a simplement broyé le sac dans l'eau, après macération de quelques heures à la température ordinaire.

Quant à la myrosine de la Moutarde blanche, elle a été préparée par deux procédés différents. Le premier consiste à faire macérer la graine pulvérisée dans l'eau vers 40° pendant quelques heures. Le liquide filtré est ensuite chauffé à 70° pour coaguler une partie des matières albuminoïdes, puis, après filtration, précipité par le double de son volume d'alcool à 90°. Le précipité était ensuite séché à l'étuve à 30°, puis lavé à l'éther.

Dans le second mode de préparation, à l'infusion de Moutarde on ajoute son volume d'alcool à 86°; le liquide filtré est ensuite précipité par deux volumes du même alcool, séché et lavé à l'éther. La poudre ainsi obtenue m'a paru un peu plus active, à poids égal, sur le myronate, que dans le cas précédent. Mais l'un et l'autre produits se comportent de la même façon sous l'influence de la chaleur et des agents chimiques; j'ai surtout employé le premier.

Pour être aussi comparables que possible, les expériences faites

avec la myrosine, provenant des trois sources indiquées, devaient porter sur des quantités de substance possédant sensiblement la même action sur le myronate de potassium. Cette action a été déterminée en dosant le soufre de l'essence de Moutarde (1) et, par suite, la proportion de cette essence obtenue en mettant en présence, pendant vingt-quatre heures, à la température ordinaire, une solution de myronate de potassium, soit avec le tégument séminal du Papayer, soit avec l'aile de la Lunaire, soit avec la poudre ferment retirée de la Moutarde blanche. La quantité de glucoside employée dans ces essais comparatifs était naturellement supérieure à celle que le poids de substance active empruntée à ces trois sources pouvait décomposer.

On a trouvé ainsi que les téguments retirés de 0^{gr},25 de graines de Papayer, et pesant en moyenne 0^{gr},02 à l'état sec, fournissaient, par leur action sur un excès de myronate, 0^{gr},015 à 0^{gr},017 d'essence de Moutarde. Pour obtenir la même proportion d'essence, il fallait employer environ 0^{gr},08 de l'aile de la graine de Lunaire et 0^{gr},10 de la poudre ferment retirée de la Moutarde blanche par le premier procédé. Ces trois poids de substance fermentaire peuvent donc être considérés comme sensiblement équivalents quant à leur action sur le myronate.

Dans cette étude, nous admettrons d'abord que les autres ferments, dont la myrosine est accompagnée dans les tissus qui la possèdent, sont sans action sur le myronate de potassium, dont l'emploi servira à constater la persistance ou la disparition du pouvoir fermentaire de la myrosine. Dans un travail ultérieur, je montrerai que, chez le Papayer et la Moutarde noire ou blanche, il existe, à côté de la myrosine, deux autres ferments qui se comportent, l'un comme l'invertine, l'autre comme la diastase de l'orge germée. L'expérience montre que ces deux zymases ne dédoublent pas le myronate de potassium.

Séparé de la graine après macération de quelques heures dans l'eau distillée froide, le sac tégumentaire du Papayer était, comme

(1) Les procédés de dosage seront indiqués dans un travail où j'exposerai une série de recherches sur la décomposition du myronate de potassium pendant la germination de la Moutarde noire. Il suffira de dire ici que le soufre de l'essence peut être oxydé par le brome en excès et précipité à l'état de sulfate de baryte, ou transformé en sulfure par la potasse, soit en tube scellé, soit par ébullition prolongée dans un appareil à reflux, puis dosé par l'iode.

on l'a dit, broyé et additionné d'eau; avec 5 grammes de graines, on préparait ainsi 100 centimètres cubes de liquide. On avait donc, dans 5 centimètres cubes, la substance active contenue dans le tégument de 0^{gr},25 de graines. La réaction du liquide était sensiblement neutre. Sauf indication contraire, c'est ce dernier volume de liquide, préparé au moment du besoin, qui a été employé dans chaque expérience. Quant à la poudre ferment retirée de la Moutarde blanche par les deux procédés mentionnés, la quantité employée en sera indiquée en poids. On la dissolvait d'abord dans l'eau et, suivant les cas, en présence du corps dont on voulait examiner l'influence; puis la solution était additionnée de myronate de potassium, dans la proportion de 0^{gr},10 à 0^{gr},20 pour 100.

1. ACTION DE LA CHALEUR. — Les liquides à myrosine sont introduits au fond de tubes à essai et chauffés au bain-marie. Un thermomètre vérifié est placé dans l'un d'eux ou dans un tube semblable renfermant le même volume d'eau distillée. Le chauffage est réglé de façon que le temps nécessaire pour élever la température de 1° soit de deux minutes. Retirés successivement de deux en deux minutes, les tubes bouchés sont abandonnés au refroidissement, puis additionnés de myronate cristallisé; on les laisse ensuite dix-huit à vingt-quatre heures à la température ordinaire (18° à 20°). Après ce laps de temps, on recherche quels sont ceux qui dégagent l'odeur de l'essence de moutarde; quand cette odeur est faible ou douteuse, les tubes fermés sont portés vers 40° ou 50°, de façon à la rendre plus facilement perceptible. L'odorat permet ainsi de reconnaître les moindres traces d'essence et, par suite, la décomposition d'une quantité extrêmement faible de myronate. On conçoit, d'ailleurs, que, dans ces conditions, on ne puisse songer à doser l'essence de moutarde formée.

Divers essais ayant montré que les liquides à myrosine conservent toujours après chauffage à 80°, même pendant plus de deux minutes, une action rapide et énergique sur le myronate, les résultats suivants n'ont trait qu'à des températures plus élevées.

A. *Myrosine du Papayer*. — On dispose une première série de tubes renfermant chacun 5 centimètres cubes de liquide ferment additionné de 5 centimètres cubes d'eau distillée; après chauffage

et refroidissement, on ajoute 0^{gr},02 de myronate. Au bout de dix-huit heures de séjour à + 20°, les résultats sont les suivants :

Tube n° 1,	retiré à 80°,	dégage	odeur	intense.
— n° 2	— 81°	—	—	—
— n° 3	— 82°	—	odeur	forte.
— n° 4	— 83°	—	odeur	assez forte.
— n° 5	— 84°	—	odeur	très faible.
— n° 6	— 85°	—	pas	d'odeur.

Dans le tube n° 5, chauffé à 84°, l'odeur n'est perceptible que lorsqu'on le porte, après les dix-huit heures, vers 50°.

La température de destruction du ferment est donc comprise entre 84° et 85°.

Dans une autre série de tubes, les 5 centimètres cubes de liquide actif ayant été additionnés de 15 centimètres cubes d'eau distillée, de façon à avoir un liquide une fois moins riche en myrosine, on est arrivé à la même conclusion que ci-dessus.

B. *Myrosine de la Moutarde blanche.* — Chaque tube a reçu une solution de 0^{gr},05 de poudre ferment dans 10 centimètres cubes d'eau distillée. Celui qui a été chauffé à 83°, puis additionné de myronate, dégage, dans les mêmes conditions que précédemment, une odeur moins prononcée; dans celui qui a été soumis à la température de 84°, la formation d'essence de moutarde reste douteuse.

Les résultats sont donc analogues aux précédents, avec cette légère différence que, pour une quantité de substance sensiblement équivalente, quant à son action sur le myronate, à celle employée dans la seconde série d'expériences avec le sac tégumentaire du Papayer, l'activité de la poudre ferment retirée de la Moutarde blanche semble encore plus affaiblie à 83° et à 84° que celle de la myrosine du Papayer.

Bien que la température à laquelle la myrosine offre son maximum d'activité sur le myronate de potassium n'ait pas été fixée, il n'en est pas moins facile de remarquer, à l'aide des indications précédentes, que l'affaiblissement de cette substance se produit avec une grande rapidité à partir d'un certain degré de température, voisin de 80°.

Encore très prononcé à 81°, son pouvoir fermentaire est totalement détruit à 85°. La courbe qui servirait à le représenter, si l'on avait pour cela toutes les données nécessaires, descendrait donc très rapidement à partir de la température optimale. Par ce caractère, la myrosine ressemble aux ferments solubles tels que l'invertine et la diastase, pour lesquels cette courbe a été fixée avec l'exactitude approchée que comporte l'étude de ces sortes de substances.

En comparant la myrosine aux deux ferments ci-dessus, les mieux étudiés au point de vue de l'influence exercée sur eux par la chaleur, on voit que c'est de la diastase du malt qu'elle se rapproche le plus quant à la température de destruction. Dans les expériences de Kjeldahl (1), en effet, l'action de l'invertine, qui atteint son maximum vers 53°, est entièrement supprimée vers 70°, tandis que celle de la diastase, dont le maximum a lieu à 63°, disparaît seulement à 86°, ainsi que l'indique la courbe établie par cet habile observateur.

2. ACTION DE L'ACIDE SALICYLIQUE. — En étudiant l'action de ce corps sur diverses diastases, Ed. Schaër (2) a constaté que si l'on traite par une solution à 0,10 pour 100 la poudre de Moutarde noire, la formation de l'essence n'est pas empêchée. Mais, en opérant de la sorte, les résultats ne peuvent être qu'approximatifs, en raison des substances variées qui existent dans la poudre en question.

Remarquons d'abord que l'acide salicylique en solution aqueuse, à la dose de 0^{gr},20 pour 100, après un séjour de vingt-quatre heures à 30° en présence du myronate de potassium, ne produit aucune décomposition du glucoside. L'addition de myrosine à ce liquide ne donne pas lieu non plus à la formation d'essence de moutarde. Il fallait donc essayer des doses moindres. En opérant à 30°, afin d'être sûr de maintenir l'acide salicylique en solution, on prend :

(1) J. Kjeldahl, *Recherches sur les ferments producteurs de sucre* (Medd. fra Carlsberg Laborat., p. 187, t. 1, 1881).

(2) Ed. Schaër, *Ueber die Veränderung der Eigenschaften der Fermente durch Salicylsäure und einige andere antiseptische Mittel* (Journ. für Praktische Chemie, 1875, p. 128).

A. Myrosine du Papayer.....	5 c. cubes.
Eau distillée.....	45 c. cubes.
Acide salicylique.....	0 ^{gr} ,05
Myronate de potassium.....	0 ^{gr} ,05
B. Myrosine de la Moutarde blanche.....	0 ^{gr} ,05
Eau distillée.....	50 c. cubes.
Acide salicylique.....	0 ^{gr} ,05
Myronate de potassium.....	0 ^{gr} ,05

Après vingt-quatre heures de séjour à 30°, les tubes maintenus fermés dégagent l'odeur d'essence de moutarde.

En opérant ensuite de la même façon avec 0^{gr},15 d'acide salicylique pour 100, l'odeur est à peine sensible. On peut donc en conclure que, dans les conditions ci-dessus et pour les quantités de ferment employées, l'action de la myrosine est presque entièrement annulée par 0^{gr},15 pour 100 d'acide salicylique.

Des expériences comparatives sur la diastase montrent que le pouvoir saccharifiant de cette substance sur l'empois d'amidon est de même supprimé par une proportion d'acide salicylique très voisine de 0^{gr},15 pour 100. La diastase employée avait été préparée en délayant dans deux parties d'eau tiède de l'orge germée pulvérisée, puis en ajoutant au liquide son volume d'alcool à 86° et en précipitant ensuite la liqueur filtrée par un égal volume d'alcool. En dissolvant 0^{gr},05 de la poudre ainsi obtenue dans 50 centimètres cubes de liquide renfermant 0,15 pour 100 d'acide salicylique et 1 gramme d'amidon à l'état d'empois, on constate qu'il n'y a pas de saccharification après dix-huit heures à + 30°. Mais il y a formation d'une petite quantité de sucre réducteur quand on emploie seulement, dans les mêmes conditions, 0,10 pour 100 d'acide salicylique. Si Kjeldahl admet que cette dernière proportion d'acide supprime entièrement l'action de la diastase (1), c'est parce que la richesse des liqueurs diastasiques employées par lui dans ses expériences était plus faible (2). Il importe donc de préciser les conditions dans lesquelles on opère.

(1) J. Kjeldahl, *Recherches sur les ferments producteurs du sucre* (Medd. fra Carlsberg Laborat., p. 152, t. I, 1879).

(2) L'auteur s'est servi en effet, comme dissolution de diastase, d'une macération de 1 p. malt dans 4 p. d'eau.

3. ACTION DU TANIN. — Une série de tubes renfermant pour 25 centimètres cubes de liquide, soit 5 centimètres cubes du liquide préparé avec le Papayer, soit 0^{gr},05 de myrosine de la Moutarde blanche, sont additionnés de tanin et de myronate et laissés pendant vingt-quatre heures à 20°. La proportion de tanin a été portée jusqu'à 1 gramme pour 100.

On constate que l'odeur d'essence de moutarde est à peine sensible. Toutefois, en élevant la température vers 50°, on peut affirmer qu'il y a eu décomposition du myronate dans les deux cas, mais l'odeur d'essence reste très faible.

Ce résultat est analogue à celui que j'ai signalé au point de vue de l'action du tanin sur l'émulsine (1). Il résulte, en effet, de mes observations à ce sujet, que ce composé, à la dose de 1 pour 100, n'empêche pas entièrement l'action de l'émulsine sur l'amygdaline, quand on opère avec une solution contenant, pour 100 centimètres cubes, 1 gramme d'amygdaline et 0^{gr},04 d'émulsine des amandes douces.

Si l'on combine l'action de la chaleur à celle du tanin, une faible proportion de ce dernier composé rend la myrosine inactive. C'est ainsi qu'en chauffant à 80° en présence de 0^{gr},05 de tanin pour 100, soit la myrosine du Papayer, soit celle de la Moutarde blanche, l'addition ultérieure de myronate ne donne pas lieu à la formation d'essence de moutarde.

4. ACTION DU CHLORAL. — Il est curieux de voir que le chloral, qui se combine énergiquement aux matières albuminoïdes, n'exerce qu'une action relativement faible sur la myrosine.

Déjà, l'on a fait semblable remarque à propos de l'émulsine (2), qui ne cesse pas de dédoubler l'amygdaline quand elle se trouve en présence de 3^{gr},50 pour 100 de chloral.

A. *Myrosine du Papayer.* — En opérant à 40° avec une série de tubes renfermant chacun 5 centimètres cubes du liquide ferment préparé avec le Papayer, 20 centimètres cubes d'eau contenant

(1) *Sur la localisation, dans les amandes et le Laurier-cerise, des principes qui fournissent l'acide cyanhydrique (Journal de Botanique, p. 22, 1890).*

(2) Ch. Bougarel, *Thèse inaugurale, 1877, p. 44.*

des quantités croissantes de chloral et 0^{gr},02 de myronate, on obtient les résultats suivants :

N° 1,	avec chloral	1	pour 100,	odeur d'essence après	1/4 d'h.,	très forte.
N° 2	—	2	—	—	1/4 d'h.,	assez forte.
N° 3	—	3	—	—	1/4 d'h.,	sensible.
N° 4	—	4	—	—	1/2 d'h.	—
N° 5	—	5	—	—	1 heure	—

Dans le tube n° 5, l'odeur, devenue très manifeste après une heure et demie, n'avait pas beaucoup augmenté d'intensité après douze heures. A la dose de 5 grammes pour 100, le chloral ne supprime donc pas entièrement l'action de la myrosine dans les conditions de l'expérience, mais il la diminue considérablement. Cette expérience n'a pas été poursuivie avec une proportion plus grande de chloral, parce qu'il devient impossible de distinguer l'odeur fournie par des traces d'essence de moutarde en présence du chloral.

B. *Myrosine de la Moutarde blanche.* — Si, pour les mêmes proportions de chloral et 25 centimètres cubes de liquide, on prend 0^{gr},05 de cette myrosine, on constate les mêmes résultats. Mais en employant, dans des conditions semblables, seulement 0^{gr},01 de myrosine, l'odeur d'essence de moutarde devient à grand'peine reconnaissable dans le tube contenant 5 pour 100 de chloral. On voit par là qu'il importe de tenir compte des proportions de substance active et de préciser les conditions expérimentales.

L'action de la température de 80°, en présence du chloral, diminue considérablement le pouvoir fermentaire de la myrosine du Papayer, de la Moutarde blanche et de la Lunaire.

En effet, si l'on chauffe pendant deux minutes à cette température, en présence du chloral, dans un volume total de 25 centimètres cubes de liquide, comme dans les expériences précédentes, soit 5 centimètres cubes du liquide ferment du Papayer, soit 0^{gr},05 de poudre retirée de la Moutarde blanche, soit 0^{gr},02 de l'aile de la graine de Lunaire, on supprime à peu près totalement l'action de la myrosine quand la proportion de chloral est de 1 gramme pour 100.

En résumé, on voit que le chloral est beaucoup moins actif, à

poids égal, que le tanin, aux températures où les expériences ont été faites.

5. ACTION DE L'ALUN ET DU BORAX CRISTALLISÉS. — Il m'a semblé qu'il y avait peu de différence dans l'action de ces deux sels sur la myrosine, et cette action est moins prononcée que celle du chloral. Des solutions de ferment semblables à celles employées précédemment ont été mises pendant vingt-quatre heures à la température de 30°, pour éviter la cristallisation du borax surtout, dans des tubes qui contenaient jusqu'à 10 pour 100 des sels en question.

Après ce laps de temps, les tubes renfermant 6 grammes de borax ou d'alun n'offraient qu'une faible odeur d'essence; ceux qui en contenaient davantage ne paraissaient pas avoir donné lieu à une décomposition du myronate. Mais, en les portant tous ensuite simultanément, au bain-marie, à 50° pendant une demi-heure, on pouvait remarquer que même à la dose de 8 grammes pour 100, l'alun ou le borax n'avaient pas supprimé absolument l'action de la myrosine.

Il est à peine besoin d'ajouter que, dans toutes ces expériences, on s'assurait que le myronate de potassium mis seul, à la même température et dans le même volume de liquide, en présence des composés dont on voulait essayer l'action sur la myrosine, ne subissait pas le moindre dédoublement.

M. Camus, secrétaire, donne lecture de la communication suivante :

SUR UNE PLANTULE ANORMALE DE *QUERCUS PEDUNCULATA* Ehrh.,
par M. Edmond GAIN. □

Quand on examine les plantules de Chêne qui portent encore leurs cotylédons, on ne tarde pas à observer de grandes variations dans la morphologie externe des deux cotylédons.

Dans une germination normale, issue d'une graine normalement constituée, les deux cotylédons affectent chacun la forme régulière d'un demi-ovoïde, l'embryon est ordinairement placé à la base du gland, au voisinage du fond de la cupule du gland, et les deux cotylédons égaux sont appliqués l'un contre l'autre par une face plane qui est orientée dans un plan *longitudinal* qui passe par le grand axe du fruit.